

УДК 543.42

ИЗУЧЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ОРГАНОВ ЖИВОТНЫХ И НАКОПЛЕНИЯ НАНОПОРОШКА КАРБИДА ВОЛЬФРАМА В НИХ МЕТОДОМ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО-СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ (ИСП-АЭС)

*В.А.Волченкова, Е.К.Казенас, И.И.Кряжков, А. Ю.Поляков
Институт металлургии и материаловедения им. А.А.Байкова РАН
119991, Москва, Ленинский пр-т, 49,
kazenass@ultra.imet.ac.ru*

Поступила в редакцию 25 апреля 2007 г.

Поступила в редакцию 25 апреля 2007 г.

Изучены степени накопления нанопорошка карбида вольфрама в органах крыс. Показаны этапы проведенной работы, способы пробоподготовки органов для последующего проведения испытаний.

По разработанной методике растворения органов и определения вольфрама в ИСП-АЭС авторами были проанализированы многочисленные серии органов животных (легкие, печень, почки, сердце, мозг, селезенка, гонады).

В результате проведенной работы получены данные по распределению нанопорошка карбида вольфрама в органах крыс.

Ключевые слова: анализ, атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой, карбид вольфрама, наноматериалы, органы крыс.

Волченкова Валентина Анатольевна – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы атомно-эмиссионного с индуктивно связанной плазмой метода анализа Аналитической лаборатории Института металлургии и материаловедения им. А.А.Байкова Российской Академии наук (ИМЕТ РАН).

Область научных интересов: применение атомно-абсорбционной и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в анализе природных и промышленных материалов.

Автор 60 научных работ.

Казенас Евгений Константинович – доктор технических наук, заведующий Аналитической лабораторией Института металлургии и материаловедения им. А.А.Байкова Российской Академии наук (ИМЕТ РАН).

Область научных интересов: изучение термодинамики испарения и диссоциации химических соединений при высоких температурах.

Автор 160 научных работ.

Кряжков Иван Иванович – инженер-исследователь Аналитической лаборатории Института металлургии и материаловедения им. А.А.Байкова Российской Академии наук (ИМЕТ РАН).

Область научных интересов: применение атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в анализе природных и промышленных материалов.

Автор 3 научных работ.

Поляков Александр Юрьевич – лаборант-исследователь Аналитической лаборатории Института металлургии и материаловедения им. А.А.Байкова Российской Академии наук (ИМЕТ РАН).

Область научных интересов: применение атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в анализе природных и промышленных материалов.

Автор 3 научных работ.

Введение

Интенсивное развитие нанонауки за последние 10–15 лет идёт во всём мире, в том числе и в нашей стране. Это связано с развитием средств быстрой обработки и хранения больших объёмов информации. Использование наноматериалов приобретает грандиозные перспективы не толь-

ко в силу уникальной, невиданной ранее возможности миниатюризации устройств, но и из-за их фундаментального отличия от обычных материалов и приобретения новых свойств [1].

Изучение ведется по трем основным направлениям:

- нанопорошки и компактные нанокристалли-

ческие материалы;

- нанокластеры и нанокластерные структуры;
- фуллерены, нанотрубки и их производные.

От единичных опытов и лабораторных образцов человечество переходит к промышленному использованию нанотехнологий и наноматериалов. Частицы наноразмеров впервые в истории стали использоваться в производственно-технологических циклах. Наибольшее применение в промышленности получают нанопорошки в качестве исходного сырья при производстве сверхпроводников, солнечных батарей, фильтров, присадок к смазочным материалам, магнитных пигментов и др. По мере выполнения новых фундаментальных исследований, проводимых в самых разнообразных отраслях, этот перечень быстро расширяется [2].

Ввиду такого быстрого распространения наноматериалов встает очень важная проблема – влияние наноматериалов на живые организмы.

Из прежних исследований [3] известно, что у рабочих производства твердых сплавов, подвергавшихся воздействию повышенных концентраций смешанной пыли титана, карбидов вольфрама и кобальта, наблюдались раздражения слизистых, риниты, ринофарингиты. У некоторых возникал обструктивный бронхит, а также развивался невростероз. Характер воздействия наноматериалов и нанопорошков на человека и другие живые организмы практически не изучен [4]. Поэтому исследование этого воздействия является одним из приоритетных направлений нанонауки.

В связи с этим на базе Института металлургии и материаловедения имени А.А.Байкова Российской академии наук (ИМЕТ РАН) совместно с Российской медицинской академией исследуется влияние наноматериалов на живые организмы, в частности, на организмы крыс.

Атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС), разработанная в начале 60-х годов прошлого столетия, в настоящее время нашла широкое применение как метод аналитической химии с большими возможностями. ИСП-АЭС удачно объединяет в себе экспрессность, возможность надежного измерения аналитических сигналов, низкие пределы обнаружения, сравнительно небольшой уровень влияний сопутствующих элементов. Кроме того, ИСП-АЭС обеспечивает линейность градуировки в диапазоне 5-6 порядков при высокой воспроизводимости измерений ($S_r \leq 0,01$), что является определяющим фактором при выборе метода определения металлов. Возможность одновре-

менного определения всех изучаемых элементов в широком диапазоне содержаний на фоне сопутствующих компонентов также является весомым преимуществом этого метода.

Атомно-эмиссионная спектроскопия с индукционной плазмой - разрушающий метод анализа. Исследуемый материал должен быть переведен в раствор. Растворенная проба в виде аэрозоля вводится в аргонную плазму, температура которой около 8000°С. Атомы и ионы образца в плазме находятся в возбужденном состоянии. Измеряется интенсивность излучения, испускаемого при переходе атомов и ионов на более низкие энергетические уровни. Расшифровка полученного спектра позволяет делать заключение о качественном и количественном составе анализируемого образца. Для количественного анализа необходима предварительная калибровка прибора по стандартным растворам.

В нашей работе, используя возможности спектрометра с высоким разрешением, мы разработали методики ИСП-АЭС определения вольфрама, а также минерального состава органов крыс.

Цель данной работы – изучение степени накопления нанопорошка карбида вольфрама в органах крыс.

Работа состояла из следующих этапов:

1. Получение нанопорошков карбида вольфрама;
2. Интрахеальное введение наночастиц карбида вольфрама в организмы крыс;
3. Препарация крыс;
4. Разработка методики растворения образцов органов;
5. Разработка методики растворения карбида вольфрама;
6. Разработка методик ИСП-АЭС определения минерального состава органов крыс и вольфрама.

Методика исследования

Нанопорошки были синтезированы плазмохимическим методом в лаборатории плазмохимии ИМЕТРАН.

Для исследования были взяты нанопорошки карбида вольфрама с размером частиц 15, 60 нм и 1,2 мкм, которые вводили интрахеально в организм крыс. Через определенное время после введения порошков, животных выводили из эксперимента и препарировали (по органам). Эта часть работы проводилась в Российской медицинской академии постдипломного образования (РМАПО).

Для перевода органов крыс в раствор (в целях последующего исследования методом ИСП-АЭС) были опробованы следующие методы:

- сухое озоление при температуре 600 °С;
- мокрое озоление различными смесями кислот;
- автоклавное растворение.

Сухое озоление оказалось ненадежным способом, так как приводит к значительным потерям анализируемого материала. Автоклавное озоление – наиболее эффективно, но от него пришлось отказаться, так как у нас имелись автоклавы для растворения небольших образцов (до 1 г), а исследуемые органы имели большую массу. Поэтому в качестве метода растворения в данной работе была выбрана классическая схема мокрого озоления.

Растворение органов проводили смесью концентрированных серной и азотной кислот. Полноты растворения добивались нагреванием органов в высоких термостойких стаканах с 10 мл серной кислоты до появления густых белых паров SO_3 с последующим внесением HNO_3 . При этом образуется нитрозилсерная кислота, являющаяся сильным окислителем и позволяющая перевести в раствор любые ткани и органы живых организмов. Введение азотной кислоты продолжали до получения прозрачных растворов, которые количественно переносили в стеклотермостойкие чашки и обрабатывали 10 мл HF для удаления H_2SiO_3 и растворения карбида вольфрама. Для предотвращения выпадения в осадок солей вольфрама добавляли 2 мл H_3PO_4 . Затем растворы упаривали до полного удаления из раствора HF и H_2SO_4 (до полного прекращения выделения из растворов густых паров серной кислоты). К полученным сиропообразным растворам добавляли 1 мл концентрированной HNO_3 и 3 мл концентрированной HCl , подогревали и переводили в мерные колбы емкостью 25 мл, используя дистиллированную воду.

В растворах определяли содержание вольфрама, а также минеральный состав методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Исследования проводились на последовательном спектрометре фирмы «HORIBA Jobin Yvon» – модель «ULTIMA 2».

Спектрометр включает в себя монохроматор, высокочастотный генератор с частотой 40,68 МГц и микро-ЭВМ, под контролем которой программируются и осуществляются условия анализа.

Монохроматор имеет следующие характеристики: голографическая решетка 2400 штрихов/мм, фокусное расстояние 1 м, диапазон длин волн 160–800 нм. Перемещение решетки осуществляется шаговым мотором с размером шага 0,001 нм и механической воспроизводимостью 0,0004 нм.

Программное обеспечение спектрометра «ULTIMA 2» дает возможность использовать 125000 эмиссионных спектральных линий. Все эти линии достаточно чувствительны (0,1 – 20 ppb), что теоретически позволяет определять элементы на уровне $10^{-6}\%$. Однако при переходе к реальным пробам авторы столкнулись с проблемой ухудшения метрологических характеристик.

Пределы обнаружения оценивались по формуле:

$$\text{LOD} = k \cdot \text{BEC} \cdot \text{RSD}_0$$

где: LOD – предел определения (limit of detection); k – коэффициент, принимается равным 3 для пределов обнаружения при 3σ ; BEC – концентрация элемента, дающая сигнал равный уровню фона; RSD_0 – относительное стандартное отклонение для нулевого стандарта.

Для оценки пределов определения строится калибровочный график по двум точкам 0 и 10 ppm. Калибровка используется для определения концентрации уровня шума BEC. Относительное стандартное отклонение RSD_0 определяется по результатам анализа нулевого стандарта в течение 5 минут.

В качестве нулевого калибровочного раствора использовался контрольный образец органов, не содержащий карбид вольфрама.

Второй калибровочный раствор, содержащий 10 ppm вольфрама, готовился на солевом фоне контрольного образца.

Определение минерального состава органов животных

Количественный анализ органов проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индукционной плазмой, по программе, разработанной для анализа природных объектов. В табл. 1 представлены аналитические длины волн определяемых элементов. Для исследования минерального состава проб исходный анализируемый раствор разводили в 10 раз.

В табл. 2 представлены результаты определения элементов в различных органах крыс. Обнаружены значительные количества калия, натрия, алюминия и железа. Литературные данные о влиянии этих элементов на определение вольфрама в ИСП-АЭС немногочисленны [5].

Выбор длин волн для определения вольфрама в исследуемых объектах включает рассмотрение тех спектральных линий, которые обеспечивают подходящие пределы обнаружения и требуют минимум поправок на фон и перекрывание спектральных линий. Предварительный выбор ана-

литической линии проводили, используя атласы эмиссионной спектроскопии [6]. В табл. 3

представлены характеристики различных аналитических линий вольфрама.

Таблица 1
Характеристики аналитических длин волн определяемых элементов

Элемент	λ , нм	Пределы обнаружения, ppb (3σ)	Диапазон определяемых концентраций, ppm
Sn	189,989	1,3	0,01-100
Mo	202,030	0,2	0,01-50
Sb	206,833	1,5	0,01-100
Zn	213,856	0,2	0,005-50
Pb	220,353	1,5	0,01-100
Ni	221,647	0,3	0,005-50
Bi	223,061	2,6	0,01-100
Co	228,616	0,2	0,005-50
Cd	228,802	0,09	0,001-50
B	249,773	0,3	0,01-100
Mn	257,610	0,05	0,005-50
Fe	259,940	0,2	0,01-100
Cr	267,716	0,2	0,002-50
Mg	279,806	0,03	0,02-20
V	292,402	0,2	0,005-50
Be	313,042	0,05	0,001-10
Ca	317,933	0,03	0,01-20
Cu	324,754	0,2	0,002-50
Ti	337,280	0,2	0,002-50
Al	396,152	0,2	0,005-100
Sr	407,771	0,03	0,001-10
Na	589,592	0,6	0,01-100
K	766,490	1,5	0,01-100

Таблица 2

Содержание элементов в органах экспериментальных животных, мг

Элемент	Сердце	Лёгкие	Мозг	Почки	Печень	Селезёнка	Гонады	Кровь
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sn	0,005	0,014	0,003	0,007	0,008	0,004	0,003	0,017
Mo	0,005	0,005	0,015	0,007	0,013	0,004	0,006	0,008
Sb	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$
Zn	0,032	0,060	0,074	0,103	0,387	0,051	0,183	0,108
Pb	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$
Ni	0,003	0,002	0,020	0,002	0,003	0,003	0,004	0,005
Bi	0,006	0,007	0,005	0,004	0,006	0,004	0,006	0,007
Co	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003	0,001	0,001	0,001
Cd	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$	$<10^{-3}$
B	1,656	1,287	2,236	2,570	1,261	1,397	2,315	1,308
Mn	0,004	0,003	0,004	0,007	0,028	0,003	0,007	0,005

Окончание табл.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Fe	0,492	0,716	0,315	0,808	3,626	1,138	0,526	5,150
Cr	0,006	0,005	0,008	0,008	0,006	0,008	0,012	0,010
Mg	0,351	0,475	0,507	0,723	2,578	0,504	0,776	0,477
V	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Be	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Ca	0,311	0,710	1,010	0,657	0,815	0,247	0,356	0,567
Cu	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³	0,044	<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³
Ti	0,024	0,032	0,031	0,027	0,036	0,015	0,037	0,034
Al	2,264	2,620	2,994	2,813	2,945	1,412	2,569	2,680
Sr	0,002	0,004	0,005	0,004	0,004	0,003	0,003	0,005
Na	1,808	3,201	2,833	3,262	4,828	1,338	3,320	6,645
K	0,558	1,123	1,203	1,017	5,004	1,097	1,872	2,320

Таблица 3

Характеристики аналитических линий вольфрама

Длина волны λ , нм	Пределы обнаружения, ppb	Интенсивность	Мешающие элементы
207,911	20	1300	Cu, Ni, Ti
224,875	34	930	Cr, Fe
218,935	36	950	Cr, Fe, Ti
209,475	36	850	Al, Fe, Ni, Ti, V

Была проведена оценка спектральных помех и выбрана наиболее чувствительная линия вольфрама 207,911 нм с пределом обнаружения 20 ppb. Кроме того элементы, мешающие определению вольфрама на этой длине волны (Cu, Ni, Ti), в анализируемых образцах практически отсутствуют.

Для изучения влияния матричного состава различных органов при ИСП-АЭС на определение W использовали растворы органов контрольных животных, которые не подвергались воздействию нанопорошков карбида вольфрама (т.е. не содержали вольфрама). Полученные результаты позволили сделать вывод о том, что катионный состав проб не влияет на аналитический сигнал вольфрама ($\lambda = 207,911$ нм). Это делает возможным прямое ИСП-АЭС определение низких концентраций вольфрама (20 ppb) в анализируемых растворах.

Было изучено влияние кислот на определение вольфрама. На рис. 1 представлены зависимости аналитических сигналов вольфрама от природы и концентрации кислот, находящихся в анализируемом растворе. Из графика следует, что повышение концентрации кислоты в анали-

зируемом растворе приводит к понижению интенсивности аналитических сигналов, причем степень изменения зависит и от природы кислоты. В практической работе необходимо учитывать, что неконтролируемые колебания концентрации кислот могут привести к погрешностям, существенно превышающим инструментальные. Кислотность градуировочных растворов и проб необходимо поддерживать строго одинаковой.

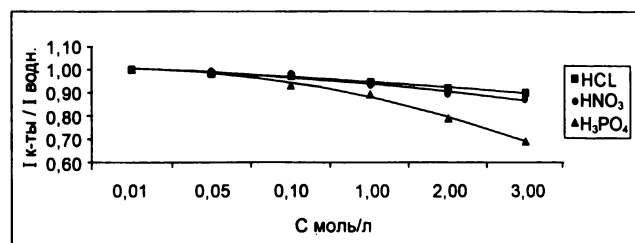


Рис. 1. Зависимость интенсивности сигнала вольфрама от природы и концентрации кислот

Результаты работы

По разработанной методике растворения органов и АЭС с ИНП определения вольфрама авторами были проанализированы многочисленные серии органов животных (легкие, печень, почки, сердце, мозг, селезенка и гонады).

В результате проведенной работы получены данные по распределению нанопорошка карбида вольфрама в органах крыс.

Из полученных результатов, представленных в табл. 4, следует, что наибольшее количество карбида вольфрама накапливается в лёгких и печени.

Таблица 4

Распределение порошков карбида вольфрама по органам экспериментальных животных

Размер порошка WC, нм	Сроки выведения животного из эксперимента после затравки, недели	Количество карбида вольфрама в органе, мг						
		Лёгкие	Печень	Почки	Сердце	Мозг	Селезёнка	Гонады
15	1	0,256	0,019	0,008	0,002	0,006	0,008	0,012
	4	0,153	0,012	0,002	0,001	0,002	0,004	0,005
	25	0,097	0,012	0,002	0,001	0,002	0,003	0,004
60	1	0,18	0,015	0,001	0,002	0,002	0,002	0,004
	4	0,088	0,018	0,002	0,001	0,001	0,002	0,002
	25	0,016	0,014	0,001	0,001	0,001	0,002	0,001
1200	1	0,105	0,004	0,001	0,001	0,001	0,002	0,003
	4	0,025	0,004	0,001	0,001	0,001	0,002	0,002
	25	0,008	0,004	0,002	0,001	0,001	0,002	0,002
Контроль 1		0,0015	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Контроль 2		0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

Степень накопления и сроки выведения порошка зависят от размера его частиц. Чем меньше размер частиц, тем больше они накапливаются в органах и тем хуже они выводятся из организма. Частицы размером 1-2 мкм полностью выводятся за 25 недель, а частицы размером 15 нм сохраняются в органах даже через большой промежуток времени (рис. 2).

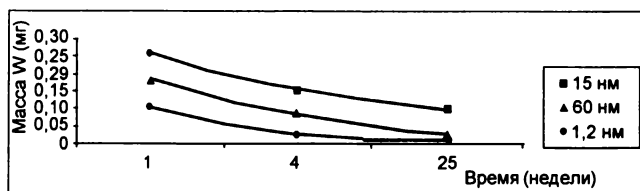


Рис. 2. Выведение карбида вольфрама из легких животных

В отличие от частиц микроразмеров, частицы наноразмеров способны преодолевать гематоэнцефалический барьер. Об этом свидетельствует повышенное содержание карбида вольфрама в мозге животных, которым вводился нанопорошок карбида вольфрама с размером частиц 15 и 60 нм, по отношению к контрольным образцам. У крыс, которым вводился порошок с размером частиц 1,2 мкм, этого не наблюдается.

Нанопорошок проникает и в гонады, т.е. впол-

не возможно его влияние на наследственный материал животных.

Наименьшая степень накопления нанопорошка была установлена в сердце.

Выводы

1. Разработана методика полного растворения органов крыс.
2. Найдена смесь кислот ($\text{HF} + \text{HNO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{HCl}$) для перевода карбида вольфрама в раствор.
3. Получены данные по минеральному составу органов крыс.
4. Разработана методика ИСП-АЭС определения вольфрама в различных органах крыс:
 - выбрана оптимальная аналитическая длина волны;
 - изучено влияние катионного состава проб, а также природы и концентрации кислот на аналитические сигналы.
5. Получены данные по распределению нанопорошков карбида вольфрама в органах крыс:
 - наибольшее его количество было обнаружено в лёгких и печени, а наименьшее - в сердце;
 - чем меньше размер частиц, тем больше они накапливаются в органах и тем медленнее выводятся.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рит М. Наноконструирование в науке и технике. Введение в мир нанорасчета. Москва - Ижевск: НИЦ

«Регулярная и хаотическая динамика», 2005. 160 с.

2. Алферов Ж.И., Асеев А.Л., Гапонов С.В. и др. Нано-

материалы и нанотехнологии // Микросистемная техника. 2003. № 8. С. 3-13.

3. Филов В.А. Вредные химические вещества. Неорганические соединения V – VIII групп. Л.: Химия, 1989. 592 с.

4. Герцен П.А., Васина Т.А. Влияние нанопорошков на патогенную микрофлору. «Болезни цивилизации в аспекте учения В.И. Вернадского». Материалы тре-

тей международной конференции. М.: Изд-во Российского университета дружбы народов. 2005. С. 378.

5. Атомно-эмиссионный анализ с индукционной плазмой. Итоги науки и техники. Сер. Аналитическая химия. Т. 2 М.: ВИНТИ, 1990. 292 с.

6. Boumans P.W. J.M. Line Coincidence Tables for Inductively coupled plasma Atomic Emission Spectrometry. Vol.1,2. Oxford Pergamon Press. 1984. 902 с.

* * * * *

THE STUDY OF ELEMENTAL COMPOSITION AND DISTRIBUTION OF CARBON TUNGSTEN NANOPARTICLES IN THE BODY OF ANIMALS BY INDUCTIVELY COUPLED PLASMA – ATOMIC EMISSION SPECTROMETRY (ICP-AES)

V.A.Volchenkova, E.K.Kazenas, I.I.Kryagkov, A.U.Polyakov

Degrees of accumulation for nanoparticles of tungsten carbide in bodies of rats are investigated. Stages of the carried out work are shown. Ways of sampling of bodies for the subsequent carrying out of tests are discussed.

By the developed technique of dissolution of bodies and definitions of tungsten in ICP-OES authors have been analysed numerous series of bodies of animals (pulmon, liver, kidneys, heart, brain, spleen, gonades).

As a result of the carried out work the data on distribution of nanoparticles of tungsten carbide in bodies of rats are received.

Keywords: analysis, Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), tungsten carbide, nanoparticles, bodies of rats .
